

低氧胁迫对青海湖裸鲤端脑抗氧化酶活性、细胞凋亡及相关基因表达的影响

陈付菊 付生云 马敏 常兰 李雪源

HYPOXIA STRESS ON THE ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES, NEURONAL APOPTOSIS AND  
EXPRESSION OF RELATED GENES OF TELEENCEPHALON IN *GYMNOCYPRIS PRZEWALSKII*

CHEN Fu-Ju, FU Sheng-Yun, MA Min, CHANG Lan, LI Xue-Yuan

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.7541/2023.2021.085>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

光强对菹草生长及抗氧化酶活性的影响

EFFECTS OF LIGHT INTENSITY ON GROWTH AND ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITY OF *POTAMOGETON CRISPUS*  
水生生物学报. 2018, 42(4): 846–853 <https://doi.org/10.7541/2018.104>

人工模拟产卵环境中青海湖裸鲤的繁殖行为

REPRODUCTIVE BEHAVIORS OF *GYMNOCYPRIS PRZEWALSKII* IN ARTIFICIAL MIMIC SPAWNING ENVIRONMENTS  
水生生物学报. 2021, 45(5): 1120–1128 <https://doi.org/10.7541/2021.2020.031>

共轭亚油酸对草鱼肝脏和肌肉组织的细胞学形态、抗氧化能力以及脂肪代谢相关基因表达的影响

EFFECTS OF DIETARY CLA ON CYTOLOGICAL MORPHOLOGY, ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES, AND GENE  
EXPRESSIONS OF LIPID METABOLISM IN THE LIVER AND MUSCLE OF GRASS CARP  
水生生物学报. 2019, 43(4): 708–722 <https://doi.org/10.7541/2019.084>

多鳞*fh-1*基因克隆及其低氧胁迫的mRNA表达

CLONING AND EXPRESSION ANALYSIS OF *FIH-1* GENE IN *SILLAGO SIHAMA* UNDER HYPOXIA STRESS  
水生生物学报. 2020, 44(4): 744–748 <https://doi.org/10.7541/2020.089>

团头鲂*TET1*基因的表达及对低氧胁迫的响应研究

THE EFFECT OF HYPOXIC STRESS ON *TET1* EXPRESSION IN BLUNT SNOUT BREAM  
水生生物学报. 2021, 45(1): 1–7 <https://doi.org/10.7541/2021.2019.212>

青海湖裸鲤和黄河裸裂尻鱼感染多子小瓜虫的病理学比较研究

THE DIFFERENT PATHOLOGY OF *GYMNOCYPRIS PRZEWALSKII PRZEWALSKII* AND *SCHIZOPYGOPSIS PYLZOWI*  
INFECTED WITH *ICHTHYOPHTHIRIUS MULTIFILIIS*  
水生生物学报. 2019, 43(5): 1081–1091 <https://doi.org/10.7541/2019.127>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

doi: 10.7541/2023.2021.085

## 低氧胁迫对青海湖裸鲤端脑抗氧化酶活性、细胞凋亡及相关基因表达的影响

陈付菊<sup>1</sup> 付生云<sup>2</sup> 马敏<sup>1</sup> 常兰<sup>1</sup> 李雪源<sup>1</sup>

(1. 青海大学农牧学院, 西宁 810016; 2. 青海省裸鲤救助中心, 西宁 810003)

**摘要:** 为研究青海湖裸鲤(*Gymnocypris przewalskii*)端脑在低氧胁迫下的生理响应机制, 选取体重( $97.68 \pm 0.12$ ) g、体长( $24.11 \pm 0.12$ ) cm的健康青海湖裸鲤进行低氧[溶解氧含量( $0.7 \pm 0.1$ ) mg/L]胁迫, 设常氧[溶解氧含量( $8.4 \pm 0.1$ ) mg/L]为对照组, 分别在低氧胁迫8h和24h时采集青海湖裸鲤的端脑组织, 进行脑细胞线粒体超微结构和膜电位、抗氧化酶活性、脑细胞凋亡和凋亡相关基因(*Caspase 3*、*Bax*和*Bcl-2*)及低氧诱导反应相关基因(*Hif-2 $\alpha$* 和*EGLN1*)表达测定。结果显示, 在低氧胁迫过程中: (1)端脑神经细胞线粒体出现肿胀、嵴溶解; 线粒体膜电位在8h时显著升高, 24h时显著降低, 表明随着低氧胁迫时间的延长端脑神经细胞线粒体可能受到了损伤。(2)TUNEL检测显示端脑细胞发生了凋亡, 但随着低氧胁迫时间延长端脑细胞凋亡率无显著差异; qPCR显示, 随着低氧胁迫时间的延长端脑细胞*Caspase 3*、*Bax*和*Bcl-2*基因表达水平升高; *Bcl-2/Bax*比值随低氧胁迫时间的延长显著降低; *Hif-2 $\alpha$* 基因表达水平显著升高; *EGLN1*基因表达水平显著降低。(3)分光光度法结果显示, 端脑细胞过氧化氢( $H_2O_2$ )含量在8h时显著增加, 但随着低氧胁迫时间延长 $H_2O_2$ 含量无显著差异; 超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)含量和总抗氧化能力(T-AOC)在8h时与常氧组无显著差异, 24h时显著高于常氧组; 谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)组间无显著差异。以上结果提示, 低氧胁迫通过促进端脑细胞ROS产生, 改变线粒体膜的通透性, 上调*Caspase 3*、*Bax*和*Bcl-2*基因表达, 导致端脑细胞凋亡。同时, 在低氧胁迫下端脑细胞可能通过提高T-AOC和SOD活性及上调*Hif-2 $\alpha$* 基因和下调*EGLN1*基因表达来减少低氧应对端脑细胞的损伤。

**关键词:** 低氧胁迫; 端脑; 细胞凋亡; 基因表达; 抗氧化酶活性; 青海湖裸鲤

中图分类号: Q344<sup>+</sup>.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2023)04-0572-09



水体环境中的溶解氧(Dissolved oxygen, DO)是影响鱼类生长<sup>[1]</sup>、生殖<sup>[2]</sup>和能量代谢<sup>[3]</sup>等生命活动的重要环境因子之一。在通常情况下, 当水体中DO含量低于2.0 mg/L时, 鱼会因低氧或缺氧表现出浮头现象, 当DO含量低于1.0 mg/L时, 鱼会出现严重浮头甚至因缺氧而致死<sup>[4]</sup>。低氧能够诱导细胞内活性氧自由基(Reactive oxygen species, ROS)的大量生成, 进而造成机体氧化应激, 从而对器官造成损伤<sup>[5]</sup>。大脑是机体高耗氧的器官, 对缺氧极为敏感。研究显示, 急性缺氧会引起脑组织发生一系列的病理生理性改变, 最终造成大脑不可逆性损伤<sup>[6]</sup>。

线粒体被认为是氧浓度感受器, 同时也是产生ROS的重要细胞器<sup>[7]</sup>。在生理状态下, 细胞内存在

ROS清除系统如超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase, GPX)和过氧化氢酶(Catalase, CAT)等能够清除过量ROS使细胞内ROS的产生与清除处于动态平衡状态<sup>[8]</sup>。然而, 当机体面临急性或严峻缺氧时, ROS过量累积造成线粒体损伤, 进而引发细胞凋亡<sup>[9]</sup>。目前已知调节凋亡的途径主要有3种, 即线粒体通路、内质网通路和死亡受体通路。其中, 线粒体凋亡途径是细胞凋亡最主要的途径之一<sup>[10]</sup>, 通常凋亡信号能引起线粒体通透性转变孔(Mitochondrial permeability transition pore, MPTP)开放, 导致线粒体膜电位(Mitochondrial transmembrane potential,  $\Delta\Psi_m$ )下降<sup>[11, 12]</sup>, 从而将细胞色素c

收稿日期: 2021-04-21; 修订日期: 2021-10-24

基金项目: 青海省科技厅应用基础研究项目(2018-ZJ-729)资助 [Supported by the Basic Research Project of Science and Technology Department of Qinghai Province (2018-ZJ-729)]

通信作者: 陈付菊(1979—), 女, 博士; 研究方向为土著动物低氧适应机制。E-mail: chenfuju79@126.com

(Cytochrome *c*, Cyt *c*)等释放至细胞胞质中, Cyt *c*可激活天冬氨酸半胱氨酸蛋白酶9(Cysteine aspartic acid specific protease 9, Caspase 9), 后者可激活Caspase 3, 进而诱发Caspase家族级联反应, 最终启动细胞凋亡<sup>[13, 14]</sup>。同时, Bcl-2家族促凋亡和抑凋亡成员之间相互作用调节线粒体介导的凋亡过程<sup>[15, 16]</sup>。

鱼类响应低氧胁迫是一个复杂的生理过程, 通常由一系列低氧诱导反应相关基因调控。低氧诱导因子-2 $\alpha$ (Hypoxia inducible factors, Hif-2 $\alpha$ )和脯氨酸羟化酶2(Prolyl hydroxylase, PHD 2), 又名EGLN1 (Eglninehomolog 1)基因, 是重要的低氧诱导调控基因和氧感受器, 也是HIF信号通路中的重要调控基因, 在生物体的低氧适应中发挥重要的作用。

青海湖裸鲤(*Gymnocypris przewalskii*)作为青海湖中唯一的经济鱼类, 在青海湖整个生态系统中居于核心地位<sup>[17]</sup>。自20世纪60年代初至90年代末, 由于自然环境的破坏和人为过度的捕捞, 导致青海湖裸鲤资源急剧下降。自21世纪开始, 青海省通过封湖育渔、增殖放流和修设洄游通道等资源保护措施使其数量恢复至8.8万吨, 但与原始蕴藏量的32万吨仍有较大差距<sup>[18]</sup>。2009年, 青海湖裸鲤在《中国物种红色名录》脊椎动物篇中列为国家二级保护濒危物种, 2010年被列为世界濒危物种之一<sup>[19]</sup>。因此, 保护青海湖裸鲤资源非常重要。青海湖裸鲤长期生活在高海拔(3200 m)的环境中, 对于水体溶解氧的波动表现出较强的耐受能力<sup>[20]</sup>。目前为止, 有关青海湖裸鲤低氧耐受机制尚不清楚。因此, 本研究采用JC-1荧光染色法观察端脑细胞线粒体膜电位变化, 采用原位末端标记(Td T-mediated d UTP nick end labeling, TUNEL)法检测端脑细胞凋亡情况, 采用荧光定量PCR检测凋亡调控相关基因(*Bax*、*Bcl-2*和*Caspase 3*)及低氧诱导反应相关基因(*Hif-2 $\alpha$* 和*EGLN1*)在端脑细胞中表达水平的变化, 分光光度法检测端脑细胞内H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量和MDA含量及SOD和GPX活性的变化, 以探究青海湖裸鲤端脑对低氧胁迫应激的生理响应机制, 为其资源保护提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

性成熟的青海湖裸鲤取自青海湖黑马河, 体长(24.11 $\pm$ 0.12) cm, 体重(97.68 $\pm$ 0.12) g。正式实验前在室内暂养1周, 暂养水温(14.5 $\pm$ 0.7) $^{\circ}$ C, 水体DO维持在(8.4 $\pm$ 0.1) mg/L(自然水体中的DO值), 即本实验中为常氧, 正式实验前1d停止进食。TUNEL细胞凋亡检测试剂盒(39081800), 购自上海罗氏诊断产

品有限公司; 总RNA提取试剂盒(dp419)、Super-Real PreMix Color (SYBR Green) SuperReal彩色荧光定量预混试剂(S7422)、FastKing cDNA第一链合成预混试剂(S7513)均购自北京天根生化科技有限公司; 氯仿和无水乙醇等均购自天津市富宇精细化工有限公司; 丙二醛(MDA)测定试剂盒(A003-1)、过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)测定试剂盒(A064-1)、超氧化物歧化酶(SOD)测定试剂盒(A001-3)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)测定试剂盒(A005-1)和总蛋白测定试剂盒(A045-2)均购自南京建成生物工程研究所; 组织线粒体分离试剂盒(C3606)、JC-1线粒体膜电位检测试剂盒(C2006)、Bradford蛋白浓度试剂盒(P0006C)均购自中国碧云天生物公司; 詹纳斯绿B(J8020)购自北京索莱宝科技有限公司; 无水乙醇等均购自天津市富宇精细化工有限公司。

### 1.2 试验设计

实验鱼分成2组, 常氧组和低氧处理组, 每组设置3个平行, 每组20尾。常氧组用氧泵将水体DO维持在(8.4 $\pm$ 0.1) mg/L (自然水体中的DO值); 低氧处理组用保鲜膜将水缸上口封住, 在1h内将DO从(8.4 $\pm$ 0.1)降至(0.7 $\pm$ 0.1) mg/L<sup>[18]</sup>后, 分别在低氧处理8h和24h时, 将鱼用适量MS-222溶液麻醉, 迅速解剖后取端脑, 用生理盐水冲洗, 取右侧大脑半球, 4%多聚甲醛缓冲液(pH=7.4)固定用于端脑细胞凋亡的检测(5尾); 取右侧大脑半球, 2.5%戊二醛固定用于线粒体超微结构的观察(4尾/组); 取左侧大脑半球, 液氮储存用于抗氧化酶指标和qPCR的检测(8尾); 取整个端脑提取线粒体用于膜电位的检测(8尾/组)。低氧胁迫期间水温为(14.5 $\pm$ 0.7) $^{\circ}$ C, 调节氮气和空气的注入流量来控制水中的DO水平, 并利用AZ8402溶解氧测定仪定期监控水体DO浓度。

### 1.3 试验方法

**端脑神经细胞线粒体超微结构的观察** 参考陈付菊等<sup>[18, 21]</sup>方法, 制作端脑组织超薄切片, 双染色, 切片, 拍照, 并用透射电镜观察线粒体超微结构。

**端脑线粒体的分离和线粒体膜电位的检测** 参考陈付菊等<sup>[18, 21]</sup>方法, 取新鲜端脑组织(50 mg), 提取线粒体并检测线粒体膜电位。

**端脑组织TUNEL染色和图像分析** 用4%多聚甲醛固定后的端脑组织, 制作组织蜡块, 6  $\mu$ m厚切片后, 脱蜡以及梯度乙醇脱水, 0.1 mol/L磷酸缓冲液(PBS, pH=7.4)洗涤, 用蛋白酶K孵育10min, PBS洗涤, 加入TUNEL反应混合液置于湿盒内37 $^{\circ}$ C孵育1h, PBS洗涤3次, 每次5min, 转化剂-POD(酶标记抗荧光素抗体)37 $^{\circ}$ C孵育30min, PBS洗涤3次, 每次5min, DAB显色, 苏木精复染, 自来水返蓝, 脱水,

透明,封片。每组分别取5尾鱼,每尾鱼取5张切片,每张切片随机选取5个高倍视野(400倍),光学显微镜下观察TUNEL阳性细胞并拍照,并采用Image-Pro Plus 6.0图像分析系统计算端脑细胞凋亡率(TUNEL阳性细胞数/细胞总数 $\times 100\%$ )。

**端脑细胞凋亡基因表达水平测定** 根据GenBank中青海湖裸鲤EGLN1(KG921650.1)、*Hif-2 $\alpha$* (AY745735.1)、GAPDH(JX287373.1)和鲤科鱼类*Caspases 3*(XM\_019110173)、*Bcl-2*(XM\_019067767.1)、*Bax*(XM\_019086857)基因的CDS序列,运用prime 5.0软件设计引物,引物序列见表1,引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

参考陈付菊等<sup>[22]</sup>方法,提取不同处理组中青海湖裸鲤端脑组织总RNA,然后取1  $\mu\text{g}$ 总RNA反转录以获得相应的cDNA。以获得的cDNA为模板进行qPCR以分析低氧胁迫后*Caspase 3*、*Bcl-2*和*Bax*、*Hif-2 $\alpha$* 和*EGLN1*在脑中的表达变化。其反应体系:SYBR 预混液,上下游引物各0.8  $\mu\text{L}$ ,cDNA模板1.0  $\mu\text{L}$ ,加水至20  $\mu\text{L}$ ;反应条件:预变性94 $^{\circ}\text{C}$  3min;94 $^{\circ}\text{C}$  30s,55 $^{\circ}\text{C}$  30s,72 $^{\circ}\text{C}$  20s共30个循环。每个样品做3个重复。以GAPDH为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法进行数据的相对定量分析。

**端脑组织抗氧化酶活性的测定** 参考陈付菊等<sup>[18,21]</sup>方法,取-80 $^{\circ}\text{C}$ 保存的端脑组织(50 mg),按照质量:体积=1:9向样品中加入预冷的生理盐水,在冰上进行匀浆。随后将匀浆液用冷冻离心机在4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下离心10min(2500 r/min),取上清液,检测样品总蛋白浓度,并检测SOD、T-AOC、GPX活性及MDA和 $\text{H}_2\text{O}_2$ 含量。

#### 1.4 统计分析

结果均采用平均值 $\pm$ 标准误(mean $\pm$ SE)表示,采

表1 荧光定量引物序列

Tab. 1 Quantitative PCR primers for the study

| 引物名称<br>Primer name                | 引物序列<br>Primer sequences (5'—3') |
|------------------------------------|----------------------------------|
| <i>Caspase 3</i> -F                | CGAGGCCGACAGTGTAAAGTGAAG         |
| <i>Caspase 3</i> -R                | CAGCGAGAAGATGAACCAGGAACC         |
| <i>Bcl-2</i> -F                    | CGAGTTTGAGGGACCGTTTGTG           |
| <i>Bcl-2</i> -R                    | AGCCGCCGTTCTCCTGGATC             |
| <i>Bax</i> -F                      | GTCGGCTGTCAATCAAGGCT             |
| <i>Bax</i> -R                      | CCACCCTGTTCCCTGATCCA             |
| <i>Hif-2<math>\alpha</math></i> -F | AGCGAGAAGGAGAAGGAGAAGAAG         |
| <i>Hif-2<math>\alpha</math></i> -R | GAGCTGGTGCTGTTTGAGAGAGG          |
| <i>EGLN1</i> -F                    | CTTAAAGTGCAATCGGTGCC             |
| <i>EGLN1</i> -R                    | TGTCAGCCTCTCTGCAGGTG             |
| <i>GAPDH</i> -F                    | CGCTGGTGCTGGTATTGCTCTC           |
| <i>GAPDH</i> -R                    | GCCATCAGGTCACATACACGGTTG         |

用SPSS 17.0软件对实验数据进行单因素方差分析,不同时间点的数据进行Duncan检验进行多重比较,以 $P<0.05$ 表示差异显著,以 $P<0.01$ 表示差异极显著。

## 2 结果

### 2.1 低氧胁迫对青海湖裸鲤端脑神经细胞线粒体超微结构的影响

透射电镜观察发现青海湖裸鲤常氧组端脑神经细胞线粒体多呈圆形和椭圆形,偶见有杆状线粒体,线粒体膜完整;低氧胁迫8h时线粒体出现不同程度的肿胀、线粒体嵴溶解和断裂,部分线粒体出现轻微空泡化现象;随着低氧胁迫时间的延长线粒体空泡化更严重,并出现了端脑细胞明显的凋亡形态学改变,如细胞核浓缩,细胞染色质出现粗细不等的颗粒分散在细胞质中(图1)。

### 2.2 低氧胁迫对青海湖裸鲤端脑细胞凋亡率的影响

TUNEL阳性细胞核呈棕色,且低氧胁迫组阳性细胞着色深于常氧组阳性细胞(图2)。通过统计后发现,低氧胁迫8h时端脑皮质分子层脑细胞凋亡率显著高于常氧组( $P<0.01$ ),24h时稍有降低( $P>0.05$ ),但低氧胁迫8h和24h时端脑皮质分子层脑细胞凋亡率均高于常氧组( $P<0.01$ ;图2)。

### 2.3 低氧胁迫对青海湖裸鲤端脑细胞线粒体膜电位的影响

由图3可见,端脑细胞线粒体绿色荧光与红色

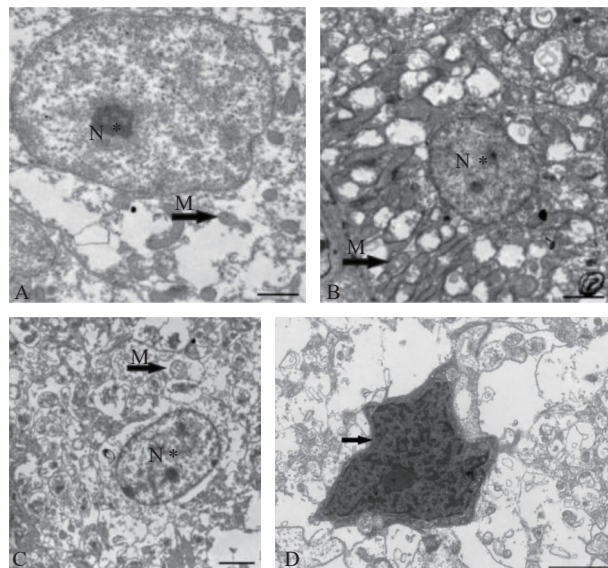


图1 低氧胁迫对青海湖裸鲤端脑细胞线粒体超微结构的影响  
Fig. 1 Effects of the hypoxia stress on telencephalon cell mitochondrial ultrastructure of *Gymnocypris przewalskii*

A. 常氧; B. 低氧处理8h; C, D. 低氧处理24h; 比例尺2  $\mu\text{m}$ ; N. 细胞核; M. 线粒体

A. normoxia; B. hypoxia treated for 8h; C, D. hypoxia treated for 24h; Bar=2  $\mu\text{m}$ ; N. nucleus; M. mitochondrial

荧光强度比值在低氧胁迫8h时显著减小( $P<0.01$ ), 24h时显著增大( $P<0.01$ )。这表明低氧胁迫8h时端脑细胞线粒体膜电位显著增大, 24h时端脑细胞线粒体膜电位显著减小。

## 2.4 低氧胁迫对青海湖裸鲤端脑细胞Caspases 3、Bcl-2、Bax、Hif-2 $\alpha$ 和EGLN1基因表达水平的影响

荧光定量PCR结果显示, 端脑细胞中Caspase 3基因表达水平在低氧胁迫8h时显著高于常氧组( $P<0.01$ ), 随低氧胁迫时间的延长Caspase 3表达水平增加( $P<0.01$ )。Bax和Bcl-2基因表达水平在低氧胁迫8h时与常氧组差异不显著( $P>0.05$ ), 随低氧胁迫时间的延长Bax和Bcl-2表达水平显著增加( $P<0.01$ ),

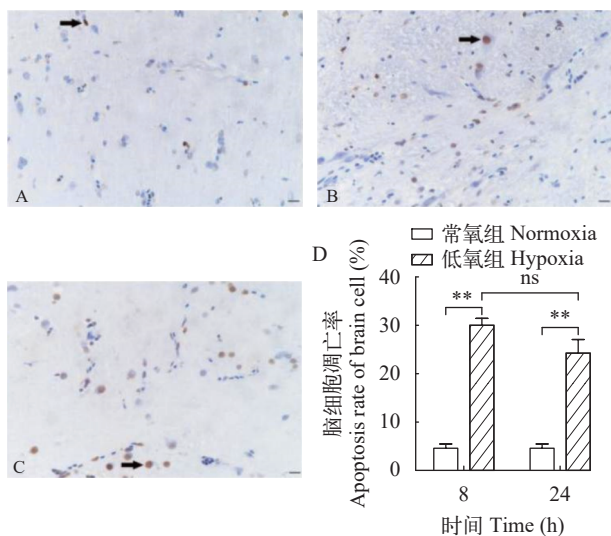


图2 低氧胁迫对青海湖裸鲤端脑细胞凋亡的影响

Fig. 2 Effects of the hypoxia stress on telencephalon cell apoptosis of *Gymnocypris przewalskii*

A. 常氧组; B. 低氧胁迫8h; C. 低氧胁迫24h。箭头示凋亡阳性细胞, 比例尺50  $\mu$ m; \*\*表示差异极显著, \*表示差异显著, ns. 表示无显著差异; 下同

A. normoxia group; B. hypoxia for 8h; C. hypoxia for 24h. Arrows indicated the immunoreactive cells. Bar=50  $\mu$ m. \*\*,  $P<0.01$ , \*,  $P<0.05$ , ns, not significant ( $P>0.05$ ). The same applies below

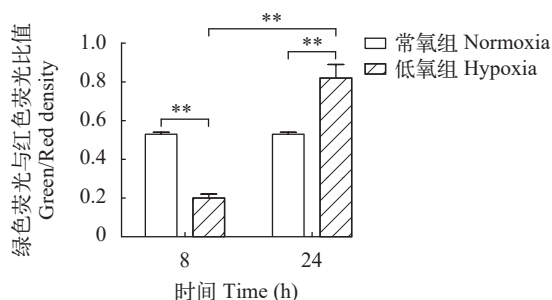


图3 低氧胁迫对青海湖裸鲤端脑细胞线粒体膜电位的影响

Fig. 3 Effects of hypoxia stress on telencephalon cell mitochondrial membrane potential of *Gymnocypris przewalskii*

且均显著高于常氧组( $P<0.01$ )。Bcl-2/Bax相对表达量比值在低氧胁迫8h时与常氧组差异不显著( $P>0.05$ ), 随低氧胁迫时间的延长Bcl-2/Bax相对表达量比值显著降低( $P<0.01$ )。Hif-2 $\alpha$ 基因表达水平在低氧胁迫8h和24h时显著高于常氧组( $P<0.05$ ), 且低氧胁迫8h和24h间Hif-2 $\alpha$ 基因表达水平差异不显著( $P>0.05$ )。EGLN1基因表达水平在低氧胁迫后显著降低( $P<0.05$ ), 且低氧胁迫8h和24h间EGLN1基因表达水平差异不显著( $P>0.05$ ; 图4)。

## 2.5 低氧胁迫对青海湖裸鲤端脑细胞抗氧化酶活性的影响

端脑细胞中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量在低氧胁迫8h时显著增加, 但随着低氧胁迫时间延长H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量无显著增加

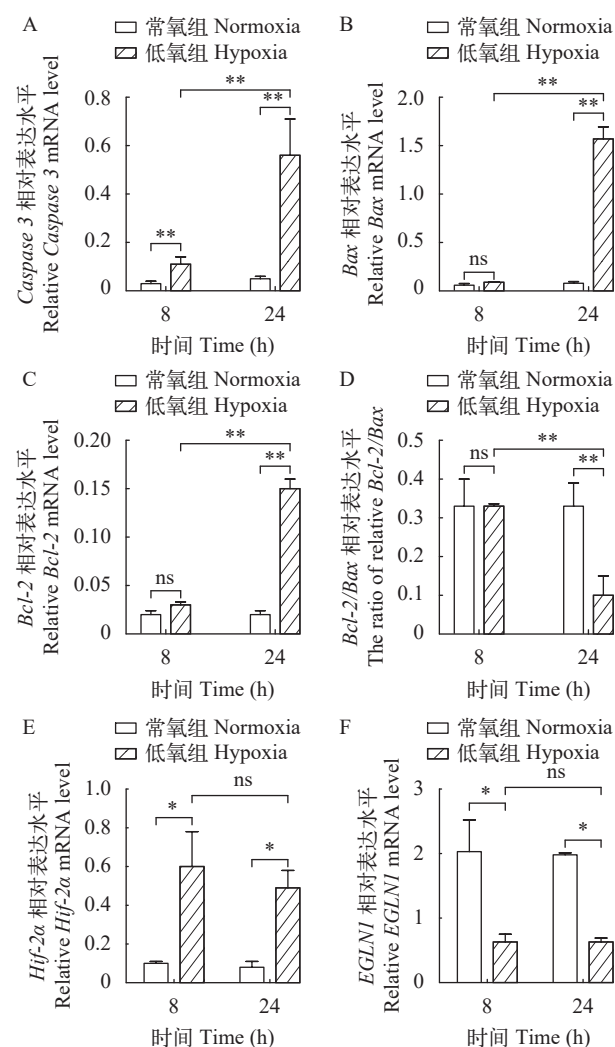


图4 低氧胁迫对青海湖裸鲤端脑细胞Bcl-2(A)、Caspase 3(B)、Bax(C)、Bcl-2/Bax (D)、Hif-2 $\alpha$  (E)和EGLN1 (F) mRNA表达水平的影响

Fig. 4 Effects of the hypoxia stress on mRNA expression levels of Caspase 3 (A), Bcl-2 (B), Bax (C), the ratio of relative level Bcl-2/Bax (D), Hif-2 $\alpha$  (E) and EGLN1 (F) in telencephalon cell of *Gymnocypris przewalskii*

( $P>0.05$ ); MDA含量在低氧胁迫8h时与常氧组差异不显著( $P>0.05$ ), 随低氧胁迫时间的延长MDA含量显著增加( $P<0.05$ ); SOD活性和T-AOC在低氧胁迫8h时与常氧组差异不显著( $P>0.05$ ), 24h时显著高于常氧组( $P<0.05$ ), 但与低氧胁迫8h间差异不显著( $P>0.05$ ); GPX活性在各处理组间差异不显著( $P>0.05$ ; 图5)。

### 3 讨论

#### 3.1 低氧胁迫对青海湖裸鲤端脑细胞线粒体超微结构和线粒体膜电位的影响

高原低压缺氧可导致不可逆性的脑组织损伤, 而线粒体作为氧浓度感受器, 其形态结构和功能的

变化在神经元应对缺氧的反应中起着关键的作用。研究显示, 缺氧可导致脑细胞线粒体结构损伤和功能障碍<sup>[23]</sup>。在本研究中, 低氧胁迫后青海湖裸鲤脑细胞线粒体出现肿胀、嵴溶解和断裂, 这些异常的形态学变化特征, 表明低氧胁迫可使青海湖裸鲤脑细胞线粒体结构受损。

线粒体通透性转变孔是调节线粒体调控细胞凋亡的关键环节<sup>[24]</sup>。在生理条件下, 线粒体外膜的通透性大于内膜的通透性, 线粒体通透性转变孔周期性开放。然而, 缺氧可通过增加 $\text{Ca}^{2+}$ 、产生ROS使线粒体通透性转变孔发生不同程度的开放。线粒体通透性转变孔的持续性开放使线粒体膜电位降低或消失, 线粒体膜功能发生改变, 机体对缺氧的耐受性受到影响<sup>[25]</sup>。研究显示, 线粒体膜电位对于维持线粒体结构和功能发挥着极其重要的作用, 其降低是细胞凋亡早期的标志, 膜电位的改变就意味着内膜的通透性发生了改变。因此, 线粒体膜电位是反映线粒体功能变化的重要指标。在本研究中, 低氧胁迫8h时青海湖裸鲤端脑细胞膜电位急剧升高, 24h时膜电位又降低, 此结果与牟幼灵等<sup>[26]</sup>的研究结果一致。本试验结果表明, 短暂性低氧胁迫使青海湖裸鲤端脑细胞线粒体膜电位应激性升高, 但随着低氧胁迫时间的延长线粒体膜电位降低。在低氧胁迫后期端脑细胞线粒体膜电位的降低可能与低氧应激导致的脑细胞内ROS生成增加有关。有研究显示, 缺氧使大脑线粒体通透性转变孔的电子流减少, 从而使线粒体ROS大量产生, 过量的ROS沉积可导致线粒体膜电位的丧失<sup>[27]</sup>。

#### 3.2 低氧胁迫对青海湖裸鲤端脑细胞氧化应激和抗氧化能力的影响

缺氧引起氧化应激, ROS大量产生, 造成机体氧化应激损伤, 故线粒体内ROS的水平能够反映细胞内的氧化应激水平, 但因ROS寿命短暂, 并且缺乏足够敏感的技术直接检测生物体内的ROS, 通常通过检测体内 $\text{H}_2\text{O}_2$ 含量来间接反映细胞发生脂质过氧化程度<sup>[28]</sup>。在本研究中, 端脑细胞内 $\text{H}_2\text{O}_2$ 含量在低氧胁迫后显著增加, 表明低氧胁迫后引起氧化应激, 从而使青海湖裸鲤端脑细胞ROS产生增加。MDA是自由基和多不饱和脂肪酸反应产生的环氧化合物, 可作为氧化应激的一个指标, 反映机体脂质过氧化程度<sup>[29]</sup>。在本研究中, 低氧胁迫24h时端脑细胞内MDA含量增加, 此结果与卢志伟等<sup>[30]</sup>对小鼠脑组织的研究结果一致。本试验结果表明, 低氧胁迫能够诱发端脑细胞中ROS的累积以及脂质过氧化。

过量ROS容易导致机体氧化应激损伤, 在正常

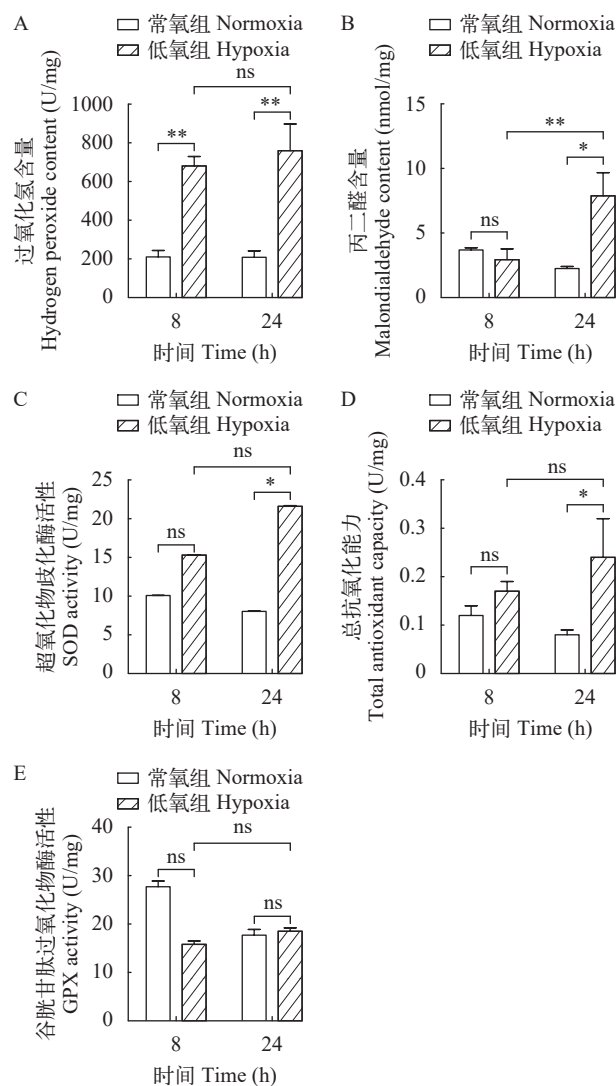


图5 低氧胁迫对青海湖裸鲤端脑细胞 $\text{H}_2\text{O}_2$ (A)、MDA(B)、SOD(C)、T-AOC(D)和GPX(E)活力的影响

Fig. 5 Effects of the hypoxia stress on  $\text{H}_2\text{O}_2$  (A), MDA (B), SOD (C), T-AOC (D) and GPX (E) activity in telencephalon cell of *Gymnocypris przewalskii*

生理条件下, 线粒体内存在抗氧化酶(SOD、GPX和T-AOC等)能够清除过量的ROS, 从而避免ROS累积造成的机体损伤。鱼类在漫长的进化过程中形成了一套对抗低氧的机制, 前期研究发现, 青海湖裸鲤在低氧胁迫下会通过调节自身的抗氧化系统来适应低氧环境。在本研究中, 端脑细胞中T-AOC和SOD在低氧胁迫24h时显著增加, 此结果与周其全等<sup>[31]</sup>对小鼠脑的研究结果一致。本试验结果表明, 当裸鲤受到低氧胁迫时, 端脑细胞中ROS应激性增高, T-AOC和SOD也响应性增高以清除脑细胞内产生的过量ROS, 这与对青海湖裸鲤体肾<sup>[18]</sup>和肌肉<sup>[21]</sup>的研究结果相似。

### 3.3 低氧胁迫对青海湖裸鲤端脑细胞凋亡、凋亡调控相关基因及低氧诱导相关基因表达的影响

氧化应激是引发细胞凋亡的有力机制。在本研究中, 低氧胁迫使青海湖裸鲤端脑细胞凋亡率显著升高, 但随着低氧胁迫时间延长细胞凋亡率无明显差异。赵金坤等<sup>[32]</sup>研究发现, 低氧胁迫下鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)脑细胞和肝细胞凋亡数目增加, 但浮头期和死亡期肝、脑细胞凋亡数目差异不显著, 并认为造成此差异现象的原因可能是低氧诱导细胞凋亡存在一个阈值, 当氧浓度超出阈值后, 细胞凋亡率的增加不明显, 与之有相似的结果在鲢<sup>[33]</sup>和团头鲂<sup>[34]</sup>(*Megalobrama amblycephala*)心肌细胞上也有报道。

细胞凋亡是细胞为适应外界环境的变化而发生的主动程序性死亡, 受多种基因的调控。细胞凋亡调控基因主要通过线粒体通路、内质网通路和死亡受体通路调节细胞的凋亡。其中, 线粒体凋亡途径是细胞凋亡最主要的途径之一<sup>[10]</sup>, 通常线粒体通透性转变孔在ROS等促凋亡信号的作用下向外开放, 导致线粒体跨膜电位下降, 从而将Cyt<sub>c</sub>等释放至细胞胞质中, Cyt<sub>c</sub>可激活Caspase 9, 后者可激活Caspase 3, 进而诱发Caspase家族级联反应, 最终启动细胞凋亡<sup>[13, 14]</sup>。在本研究中, 低氧可使青海湖裸鲤端脑细胞中Caspase 3 mRNA表达水平显著上升, 此结果与猪在低氧胁迫下Caspase 3基因表达量增加的变化趋势一致<sup>[35]</sup>。本试验结果表明, 低氧胁迫可增加青海湖裸鲤端脑细胞Caspase 3基因的转录水平。Bcl-2家族成员是启动Cyt<sub>c</sub>、Caspase 9介导的细胞凋亡所必需的关键因子。其中, Bax是线粒体介导的凋亡途径中的促凋亡基因, Bcl-2则是关键的凋亡抑制基因<sup>[36, 37]</sup>。在生理条件下, Bax蛋白与Bcl-2蛋白各自形成同源二聚体; 当机体受到低氧胁迫时, Bax与Bcl-2形成稳定的异源二聚体, 抑制Bcl-2蛋白的抑凋亡作用。研究表明, Bax与Bcl-2相

对表达量的比值在一定程度上决定了细胞的发展方向。当细胞内Bcl-2表达较多时, Bax与Bcl-2易形成稳定的异源二聚体, 抑制Bax的促凋亡作用, 从而抑制细胞凋亡; 当细胞内Bax表达水平增加, 阻止了Bcl-2的抑制凋亡作用, 促进细胞凋亡<sup>[38]</sup>。在本研究中, 随着低氧胁迫时间的延长, 青海湖裸鲤端脑细胞Bax基因表达量显著升高, 并且Bcl-2/Bax相对表达量比值明显降低, 此结果与鲢<sup>[33]</sup>在低氧胁迫下Bax基因表达量的变化趋势一致。同时, 在本研究中, 随着低氧胁迫时间的延长, 青海湖裸鲤端脑细胞Bcl-2基因表达量显著升高, 此结果与团头鲂<sup>[34]</sup>、斑点叉尾鲴(*Ictalurus punctatus*)<sup>[36]</sup>在低氧胁迫下Bcl-2基因表达量增加的变化趋势一致, 但与鲢<sup>[33]</sup>低氧胁迫下心肌细胞Bcl-2基因表达量降低的变化趋势不一致, 这可能与鱼类的自我保护机制有关, 可能是不同鱼类适应低氧环境所采取的生存策略。

不同鱼类在长期的进化过程中演化出适应不同溶解氧水环境的分子机制。Hif-2 $\alpha$ 和EGLN1基因作为重要的HIF通路基因在低氧适应中具有重要的作用。因此, 研究青海湖裸鲤Hif-2 $\alpha$ 和EGLN1基因在低氧胁迫下端脑中的表达情况, 对探究青海湖裸鲤的低氧应答机制具有重要意义。在本研究中, 低氧胁迫后青海湖裸鲤端脑细胞Hif-2 $\alpha$ 基因表达水平显著升高, 此结果与许氏鲃(*Sebastesschlegeli*)<sup>[39]</sup>、团头鲂<sup>[40]</sup>在低氧胁迫下肝、腮组织中Hif-2 $\alpha$ 表达量显著升高的结果一致, 但与花鲈(*Lateolabrax maculatus*)<sup>[41]</sup>低氧胁迫6h时Hif-2 $\alpha$ 表达量显著升高, 6—24h时降低至对照水平的结果不一致, 可能与不同鱼类在对低氧的响应时间上存在差异有关。EGLN1基因对Hif-2 $\alpha$ 具有负调控作用。在本研究中, 低氧胁迫后端脑EGLN1基因显著降低, 说明EGLN1降低了对Hif-2 $\alpha$ 的抑制, 增强Hif-2 $\alpha$ 的表达量, 从而减少低氧应激对青海湖裸鲤端脑细胞的损伤。

综上所述, 低氧胁迫通过促进端脑细胞ROS产生, 改变线粒体膜的通透性, 升高线粒体凋亡通路促凋亡基因Caspase 3和Bax及抗凋亡基因Bcl-2, 促使青海湖裸鲤端脑细胞凋亡。与此同时, 在低氧胁迫下青海湖裸鲤端脑细胞可能通过提高T-AOC, SOD活性及上调Hif-2 $\alpha$ 基因和下调EGLN1基因表达来减少低氧应激对端脑细胞的损伤。

### 参考文献:

- [1] Magnoni L J, Eding E, Leguen I, et al. Hypoxia, but not an electrolyte-imbalanced diet, reduces feed intake, growth and oxygen consumption in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 1-14.

- [2] Lai K P, Wang S Y, Li J W, *et al.* Hypoxia causes trans-generational impairment of ovarian development and hatching success in fish [J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, **53**(7): 3917-3928.
- [3] Wang W Z, Zeng Z Q, Huang J S, *et al.* Effects of hypoxia stress on antioxidation, immunity and energy metabolism of juvenile cobia, *Rachycentron canadum* [J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2020, **40**(5): 12-18. [王维政, 曾泽乾, 黄建盛, 等. 低氧胁迫对军曹鱼幼鱼抗氧化、免疫能力及能量代谢的影响 [J]. *广东海洋大学学报*, 2020, **40**(5): 12-18.]
- [4] Richards J G. Physiological, behavioral and biochemical adaptations of intertidal fishes to hypoxia [J]. *Journal of Experimental Biology*, 2011, **214**(2): 191-199.
- [5] Siques P, Brito J, Pena E. Reactive oxygen species and pulmonary vasculature during hypobaric hypoxia [J]. *Frontiers in Physiology*, 2018(9): 1-9.
- [6] Zhao R B, Zhu L H, Shu J P, *et al.* GAS5 silencing protects against hypoxia/ischemia-induced neonatal brain injury [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2018, **497**(1): 285-291.
- [7] Cadenas S. Mitochondrial uncoupling, ROS generation and cardioprotection [J]. *Biochimica et Biophysica Acta-biomembranes*, 2018, **1859**(9): 940-950.
- [8] Snezhkina A V, Kudryavtseva A V, Kardymon O L, *et al.* ROS Generation and antioxidant defense systems in normal and malignant cells [J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019(6175804): 1-17.
- [9] Coimbra-Costa D, Alva N, Duran M, *et al.* Oxidative stress and apoptosis after acute respiratory hypoxia and reoxygenation in rat brain [J]. *Redox Biology*, 2017(12): 216-225.
- [10] Karpinich N O, Tafani M, Rothman R J, *et al.* The course of etoposide-induced apoptosis from damage to DNA and p53 activation to mitochondrial release of cytochrome c [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, **277**(19): 16547-16552.
- [11] Harada H, Grant S. Apoptosis regulators [J]. *Reviews in Clinical and Experimental Hematology*, 2003, **7**(2): 117-138.
- [12] Bock F J, Tait S W G. Mitochondria as multifaceted regulators of cell death [J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2020, **21**(2): 85-100.
- [13] Estaquier J, Vallette F, Vayssiere J L, *et al.* The mitochondrial pathways of apoptosis [J]. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2012(942): 157-183.
- [14] Chipuk J E, Green D R. PUMA cooperates with direct activator proteins to promote mitochondrial outer membrane permeabilization and apoptosis [J]. *Cell Cycle*, 2009, **8**(17): 2692-2696.
- [15] Siddiqui W A, Ahad A, Ahsan H. The mystery of Bcl-2 family: Bcl-2 proteins and apoptosis: an update [J]. *Archives of Toxicology*, 2015, **89**(3): 289-317.
- [16] Protasoni M, Zeviani M. Mitochondrial structure and bioenergetics in normal and disease conditions [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, **22**(2): 586-588.
- [17] Xiong F. Studies on biology of spawning stocks of *Gymnocypris przewalskii* (Kessler) [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2003: 6-7. [熊飞. 青海湖裸鲤繁殖群体生物学 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2003: 6-7.]
- [18] Chen F J, Zhao Y T, Fu S Y, *et al.* Effects of dissolved oxygen level on the body kidney structure and antioxidant enzyme activities of Lake Qinghai scaleless carp, *Gymnocypris przewalskii* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2022, **46**(5): 680-686. [陈付菊, 赵宇田, 付生云, 等. 溶解氧水平对青海湖裸鲤体肾组织结构及抗氧化酶活性的影响 [J]. *水生生物学报*, 2022, **46**(5): 680-686.]
- [19] Xiong F, Chen D H, Duan X B. Threatened fishes of the world: *Gymnocypris przewalskii* (Kessler, 1876) (Cyprinidae: Schizothoracinae) [J]. *Environmental Biology of Fishes*, 2010, **87**(4): 351-352.
- [20] Matey V, Richards J G, Wang Y, *et al.* The effect of hypoxia on gill morphology and ionoregulatory status in the Lake Qinghai scaleless carp, *Gymnocypris przewalskii* [J]. *Journal of Experimental Biology*, 2008, **211**(Pt 7): 1063-1074.
- [21] Chen F J, Fu S Y, Lin X D, *et al.* Effects of hypoxia stress on activities of mitochondrial respiratory chain complexes and antioxidant enzyme in muscle of Lake Qinghai scaleless carp [J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2021, **41**(6): 118-124. [陈付菊, 付生云, 令小东, 等. 低氧胁迫对青海湖裸鲤肌肉线粒体呼吸链复合体酶及抗氧化酶活性的影响 [J]. *广东海洋大学*, 2021, **41**(6): 118-124.]
- [22] Chen F, Ling X, Zhao Y, *et al.* Hypoxia-induced oxidative stress and apoptosis in gills of scaleless carp (*Gymnocypris przewalskii*) [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2022, **48**(4): 911-924.
- [23] Thomas L W, Ashcroft M. Exploring the molecular interface between hypoxia-inducible factor signalling and mitochondria [J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2019, **76**(9): 1759-1777.
- [24] Lee G H, Lee H Y, Li B, *et al.* Bax inhibitor-1-mediated inhibition of mitochondrial  $\text{Ca}^{2+}$  intake regulates mitochondrial permeability transition pore opening and cell death [J]. *Scientific Reports*, 2014(4): 1-13.
- [25] Lai Z, Zhang L, Su J, *et al.* Sevoflurane postconditioning improves long-term learning and memory of neonatal hypoxia-ischemia brain damage rats via the PI3K/Akt-mPTP pathway [J]. *Brain Research*, 2016(1630): 25-37.
- [26] Mou Y L, Lü J K, Zhao R, *et al.* Curcumin protects H9c2 cells against hypoxia/reoxygenation injury by inhibiting dynamin-related protein 1-mediated mitochondrial fission [J]. *Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2020, **34**(12): 899-906. [牟幼灵, 吕京珂, 赵瑞, 等.]

- 姜黄素抑制动力相关蛋白1介导的线粒体分裂抗H9c2细胞低氧复氧损伤[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2020, 34(12): 899-906.]
- [27] Zheng T T, Xiao H T, Shen Y H, *et al.* Anticancer effects of curzerenone against drug-resistant human lung carcinoma cells are mediated via programmed cell death, loss of mitochondrial membrane potential, ROS, and blocking the ERK/MAPK and NF- $\kappa$ B signaling pathway [J]. *Journal of Buon*, 2019, **24**(3): 907-912.
- [28] Yang M, Sun S M, Fu H T, *et al.* Hypoxia and reoxygenation on antioxidant enzyme activities and histological structure of *Macrobrachium nipponense* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2019, **26**(3): 493-503. [杨明, 孙盛明, 傅洪拓, 等. 低氧和复氧对日本沼虾抗氧化酶活力及组织结构的影响[J]. 中国水产科学, 2019, **26**(3): 493-503.]
- [29] Tsikas D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges [J]. *Analytical Biochemistry*, 2017(524): 13-30.
- [30] Lu Z W, An F Y, Luo Y L, *et al.* Protective effect of astragalus lily granules on brain tissue of mice under high altitude hypoxia condition [J]. *Pharmaceutical Journal of Chinese People's Liberation Army*, 2016, **32**(4): 302-306. [卢志伟, 安方玉, 骆亚莉, 等. 黄芪百合颗粒对高原低氧模型小鼠脑氧化应激损伤的影响[J]. 解放军药科学学报, 2016, **32**(4): 302-306.]
- [31] Zhou Q Q, Zhi D X, Gao L J, *et al.* The relationship between intracerebral lipid peroxidative injury and brain edema in mice under high altitude hypoxic environment [J]. *Journal of High Altitude Medicine*, 1999, **9**(4): 1-5. [周其全, 支东学, 高丽菊, 等. 小鼠高原低氧环境暴露下脑内脂质过氧化损伤与高原脑水肿的关系[J]. 高原医学杂志, 1999, **9**(4): 1-5.]
- [32] Zhao J K, Liang H W, Zou G W, *et al.* Influence of hypoxic stress on apoptosis of hepatocyte and brain cells of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) [J]. *Journal of Northwest A & F University*, 2016, **44**(7): 34-38. [赵金坤, 梁宏伟, 邹桂伟, 等. 低氧胁迫对鲢肝和脑细胞凋亡的影响[J]. 西北农林科技大学学报, 2016, **44**(7): 34-38.]
- [33] Ding C Y, Hu L S, Li Y, *et al.* Effects of hypoxia stress on cardiomyocyte apoptosis and the control for Bax, Bcl-2 expressions in *Hypophthalmichthys molitrix* [J]. *Freshwater Fisheries*, 2018, **48**(2): 10-15. [丁晨雨, 胡利双, 李云, 等. 低氧胁迫对鲢心肌细胞凋亡及其调控基因Bax、Bcl-2表达的影响[J]. 淡水渔业, 2018, **48**(2): 10-15.]
- [34] Wu X J, Chen N, Huang C X, *et al.* Effects of hypoxia on cardiomyocyte apoptosis and activity of antioxidant enzymes in *Megalobrama amblycephala* heart [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2016, **35**(3): 108-113. [吴鑫杰, 陈楠, 黄春筱, 等. 低氧对团头鲂心肌细胞凋亡及抗氧化酶活性的影响[J]. 华中农业大学学报, 2016, **35**(3): 108-113.]
- [35] Parikh N A, Katsetos C D, Ashraf Q M, *et al.* Hypoxia-induced caspase-3 activation and DNA fragmentation in cortical neurons of newborn piglets: role of nitric oxide [J]. *Neurochemical Research*, 2003, **28**(9): 1351-1357.
- [36] Yuan Z, Liu S, Yao J, *et al.* Expression of Bcl-2 genes in channel catfish after bacterial infection and hypoxia stress [J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2016(65): 79-90.
- [37] Brooks C, Dong Z. Regulation of mitochondrial morphological dynamics during apoptosis by Bcl-2 family proteins: a key in Bak [J]. *Cell Cycle*, 2007, **6**(24): 3043-3047.
- [38] Tsukahara S, Yamamoto S, Tin T W S, *et al.* Inhalation of low-level formaldehyde increases the Bcl-2/Bax expression ratio in the hippocampus of immunologically sensitized mice [J]. *Neuro-immunomodulation*, 2006, **13**(2): 63-68.
- [39] Mu W, Wen H, Li J, *et al.* HIFs genes expression and hematology indices responses to different oxygen treatments in an ovoviviparous teleost species *Sebastes schlegelii* [J]. *Marine Environmental Research*, 2015(110): 142-151.
- [40] Shen R J, Jiang X Y, Pu J W, *et al.* HIF-1 $\alpha$  and-2 $\alpha$  genes in a hypoxia-sensitive teleost species *Megalobrama amblycephala*: cDNA cloning, expression and different responses to hypoxia [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2010, **157**(3): 273-280.
- [41] Zhang K Q, Chang Z C, Wen H S, *et al.* Sequence analysis and hypoxia-induced expression of hypoxia inducible factors (hifs) of *Lateolabrax maculatus* [J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2020, **50**(1): 39-47. [张凯强, 常志成, 温海深, 等. 花鲈低氧诱导因子基因(hifs)的序列分析及低氧诱导表达[J]. 中国海洋大学学报, 2020, **50**(1): 39-47.]

## HYPOXIA STRESS ON THE ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES, NEURONAL APOPTOSIS AND EXPRESSION OF RELATED GENES OF TELENCEPHALON IN *GYMNOCYPRIS PRZEWALSKII*

CHEN Fu-Ju<sup>1</sup>, FU Sheng-Yun<sup>2</sup>, MA Min<sup>1</sup>, CHANG Lan<sup>1</sup> and LI Xue-Yuan<sup>1</sup>

(1. Veterinary Medicine Department of Agricultural and Animal Husbandry College, Qinghai University, Xining 810016, China;

2. Qinghai Naked Carp Rescue Center, Xining 810016, China)

**Abstract:** To explore the physiological response of Qinghai Lake naked carp (*Gymnocypris przewalskii*) telencephalon cells to hypoxia, the carp with body weight ( $97.68 \pm 0.12$ ) g and body length ( $24.11 \pm 0.12$ ) cm were challenged with hypoxia stress [dissolved oxygen content of ( $0.7 \pm 0.1$ ) mg/L] and normoxia [dissolved oxygen content of ( $8.4 \pm 0.1$ ) mg/L] for 24h to measure mitochondrial ultrastructure, membrane potential, antioxidant enzyme activities, telencephalon cells apoptosis, apoptotic-related genes (*Caspase 3*, *Bax* and *Bcl-2*) and hypoxia-induced response-related gene (*Hif-2 $\alpha$*  and *EGLN1*). The results showed that: (1) nerve cells mitochondria swelled and their cristae dissolved during hypoxia stress, the mitochondrial membrane potential increased significantly at 8h and then significantly decreased at 24h, indicating the destroyed mitochondria of telencephalon cells with the increased hypoxia time. (2) hypoxia enhanced cell apoptosis and the expression levels of *Caspase 3*, *Hif-2 $\alpha$* , *Bax* and *Bcl-2* genes in telencephalon cells, and significantly decreased the ratio of *Bcl-2/Bax* and the expression of *EGLN1*. (3) the increased content of hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) in telencephalon cells only happened at 8h. Hypoxia significantly induced the activity of superoxide dismutase (SOD), the content of malondialdehyde (MDA) and the total antioxidant capacity (T-AOC) only at 24h. Furthermore, there was no significant difference in glutathione peroxidase (GPX) between the groups. These results suggest that hypoxia stress mediates the permeability of mitochondrial membrane and the expression of *Caspase 3*, *Bax* and *Bcl-2* genes via ROS production in telencephalon cells to induce telencephalon cells apoptosis, which might be balanced by increasing the activities of T-AOC and SOD and the expression levels of *Hif-2 $\alpha$*  and decreasing the expression levels of *EGLN1*.

**Key words:** Hypoxia stress; Telencephalon; Apoptosis; Gene expression; Antioxidant enzymes activity; *Gymnocypris przewalskii*